



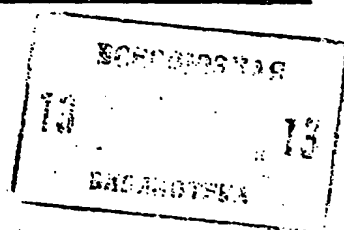
СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1140462** **A**

(5D) 4 C 12 N 1/06

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 3581612/28-13
(22) 12.01.83
(46) 07.05.86. Бюл. №17
(71) Ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф.Гамалеи
(72) А.Г.Сабельников и Б.Н.Ильяшенко
(53) 576.8.093.1(088.8)
(56) Bernhard K., Schrepf H., Joebel W. Bacteriocin and antibiotic resistance plasmids in *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. - J. Bacteriology, 133 (2), p. 897-903, 1978.

(54)(57) СПОСОБ РАЗРУШЕНИЯ БАЦИЛЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ КЛЕТОК путем обработки биомассы химическими веществами с последующим выделением элементов клеток, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа и максимального сохранения структуры клеточной оболочки, обработку биомассы осуществляют солевой средой а, сконцентрированной в 4-10 раз.

(19) **SU** (11) **1140462** **A**

Изобретение относится к микробиологии.

Целью изобретения является упрощение способа и максимальное сокращение структуры клеточной оболочки.

Способ осуществляется следующим образом. Ночную (18 ч роста) культуру бациллярного штамма засевают в свежий мясопептонный бульон (МПБ) и выращивают при 37°C до конца логарифмической фазы роста (3-3,5 ч). Клетки осаждают центрифугированием, отмывают однократно 0,85%-ным раствором NaCl и ресуспендируют в растворе, по составу соответствующем среде а, сконцентрированной в 4 раза. Инкубируют 3 ч при 37°C или ночь (18 ч) при комнатной температуре. О степени разрушения клеток судят по нескольким критериям: по визуально наблюдаемому лизису; исследованию клеточной массы под микроскопом; определению количества жизнеспособных клеток в лизатах путем посева на мясопептонный агар (выражают в % по отношению к исходному количеству); спектрометрическому анализу супернатантов после осаждения клеток.

Пример 1. 2 мл 17-часовой культуры *Bacillus cereus* штамма GP7, переносят в 40 мл свежего МПБ. Выращивают со встряхиванием (150 об/мин) 3 ч при 37°C. Клетки осаждают центрифугированием при 5000 g, однократно отмывают 0,85%-ным раствором NaCl и ресуспендируют в 1 мл среды а, имеющей состав на 1 л, г:

K_2HPO_4	10,5
KH_2PO_4	4,5
$(NH_4)_2SO_4$	1
Цитрат натрия $\cdot 2H_2O$	0,5

Смесь инкубируют 1 ч при 37°C. По всем исследованным параметрам лизис клеток не наблюдается.

Пример 2. 2 мл 20-часовой культуры штамм GP7 переносят в 40 мл свежего МПБ, затем выращивают и отмывают, как в примере 1. Клеточную массу ресуспендируют в 1 мл среды а (см. пример 1), сконцентрированной в 4 раза (обозначение а х 4) и инкубируют 1 ч при 37°C. После инкубации визуально наблюдают появление значительной вязкости, что свидетельствует о лизисе клеток. Исследование лизатов под микроскопом показывает наличие пустых клеточных оболочек, что говорит о выходе в среду клеточного содержимого.

Определение количества жизнеспособных клеток в лизатах показывает, что после инкубации в среде а х 4 степень выживаемости бацилл значительно снижена по сравнению с исходной. Количество разрушенных клеток составляет 83%.

Дополнительным свидетельством лизиса клеток являются данные спектрофотометрического анализа супернатантов после осаждения клеток. Анализ спектров поглощения указывает на наличие в лизатах материала нуклеотидного и белкового происхождения и, возможно, полисахаридов.

Редактор О. Кузнецова

Техред О. Гортвай

Корректор Л. Патай

Заказ 2715/1

Тираж 490

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Производственно-полиграфическое предприятие, г. Ужгород, ул. Проектная, 4